

Immunoterapia nowotworów - od toksyn Coley'a do blokady punktów kontrolnych układu immunologicznego

Ewelina Wołowiczewa

Grupa badawcza Krystalografii Białek

Małopolskie Centrum Biotechnologii

Koło Naukowe Studentów Biotechnologii „Mygen”

Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii

Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

el.voloviceva@student.uj.edu.pl

Praca napisana pod opieką dr Barbary Pucelik

W walce z olbrzymim problemem medycznym jakim są nowotwory od lat wykorzystuje się różne podejścia, przykładowo: leczenie chirurgiczne, chemio- i radioterapię, czy też terapię genową. Po przyznaniu w 2018 roku Nagrody Nobla Jamesowi P. Allisonowi oraz Tasuku Honjo, których badania skupiały się na białkach CTLA-4 oraz PD-1 - tzw. punktach kontrolnych układu immunologicznego coraz częściej mówi się też o immunoterapii nowotworów. Jednakże modulację mechanizmów układu odpornościowego w zwalczaniu nowotworów po raz pierwszy zastosowano już w XIX wieku, kiedy to chirurg William B. Coley zauważył zanik mięsaka u pacjenta, który chorował jednocześnie na infekcję bakteryjną. Niniejsza praca przedstawia krótki zarys rozwoju stosowania szeroko pojętej immunoterapii nowotworów oraz skupia się na definicji, funkcji i zastosowaniu punktów kontrolnych układu odpornościowego, w szczególności CTLA-4 i PD-1.

Nowotwory: skala problemu i cechy komórk

Nowotwory złośliwe od wielu lat stanowią poważny problem medyczny. Najnowsze dane dotyczące zachorowalności i śmiertelności chorób nowotworowych w bazie danych GLOBOCAN pochodzą z 2018 roku. Szacowana liczba nowych zachorowań na wszystkie rodzaje nowotworów ogółem w tym roku wynosiła około 18,1 miliona, a liczba śmierci spowodowanych chorobą nowotworową — około 9,6 miliona [1].

Jedną z kluczowych prac dotyczących nowotworami jest artykuł opublikowany w 2000 roku w czasopiśmie „Cell” autorstwa D. Hanahana i R. Weinberga. Autorzy opisali sześć głównych cech, które odróżniają komórki nowotworowe od prawidłowych, jednak wówczas żadna z nich nie wskazywała na bezpośredni związek nowotworów z układem immunologicznym [2].

W 2011 roku w tym samym czasopiśmie ukazał się kolejny artykuł tych samych autorów, uzupełniony o cztery nowe cechy charakterystyczne dla komórek nowotworowych, takie jak:



Ryc. 1. Cechy charakterystyczne komórki nowotworowej [3, na podstawie Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation].

deregulacja procesów energetycznych w komórce, niestabilność genomowa oraz liczne mutacje, zdolność do indukcji stanu zapalnego, unikanie zniszczenia przez układ odpornościowy, czyli tzw. ucieczka spod nadzoru immunologicznego (Ryc. 1) [3]. Dwie ostatnie cechy już przemawiały za udziałem układu immunologicznego w odporności przeciwnowotworowej.

Proces nowotworzenia, a układ immunologiczny

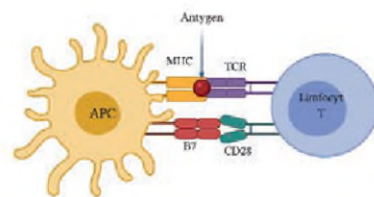
Układ immunologiczny może zostać zaktywowany do wytworzenia odporności przeciwnowotworowej dzięki wykryciu charakterystycznych antygenów występujących na powierzchni komórek nowotworowych. Przyczyną ich ekspresji są liczne mutacje genetyczne oraz modyfikacje epigenetyczne w genomie komórek nowotworowych, różniące je od komórek prawidłowych. Antygeny te wywołują odpowiedź przeciwnowotworową układu immunologicznego. Przykładem takiego

antygenu jest antygen rakowo-jądrowy NY-ESO-1, występujący m.in. w mięsaku maziówkowym. Większość antygenów nowotworowych występuje również w komórkach prawidłowych, najczęściej jednak w znikomych ilościach. Dlatego używa się wobec nich terminu TAA (ang. *tumor-associated antigens*, antygeny związane z nowotworami). Aktywność immunologiczna przeciw TAA przejawia się produkcją przeciwciał dla tych antygenów przez limfocyty B lub odpowiedzią limfocytów T, rzadziej połączeniem tych dwóch mechanizmów [4].

Antygeny są prezentowane komórkom T przez komórki APC (ang. *antigen presenting cells*, komórki prezentujące antygen) w kompleksach z cząsteczkami MHC (ang. *major histocompatibility complex*, główny układ zgodności tkankowej). Aby naiwny limfocyt T został aktywowany, musi otrzymać dwa sygnały aktywacji. Koncepcja aktywacji naiwnych limfocytów T za pomocą dwóch sygnałów została zaproponowana przez Lafferty'ego i Cunninghama

w roku 1975. Według tego modelu, naiwna komórka T do aktywacji potrzebuje pierwszego sygnału w postaci interakcji receptora TCR (ang. *T-cell receptor*, receptor komórki T) z kompleksem MHC i prezentowanego antygeny, znajdującym się na powierzchni komórki prezentującej. Drugi sygnał aktywujący to interakcja białka CD28, znajdującego się na powierzchni komórki T z ligandem z rodziny B7 (białko CD80 lub CD86) na powierzchni komórki prezentującej (Ryc. 2) [5].

Jeśli antygen zostaje rozpoznany po pierwszym sygnale aktywującym, limfocyt przywiera do komórki APC, następuje drugi i kolejne etapy aktywacji z udziałem cząsteczek kostymulatorowych. Powstaje tzw. synapsa immunologiczna (Ryc. 3). Oprócz CD28 i CD80/CD86 w synapsie immunologicznej mogą znajdować się liczne białka modulujące intensywność odpowiedzi immunologicznej organizmu. Przykładem białek modulujących o aktywności supresyjnej są cząsteczki CTLA-4 (ang. cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, antygen 4 związany z limfocytom T cytotoksycznym) i PD-1 (ang. *programmed death-1*, receptor śmierci programowanej 1). Natomiast cza-

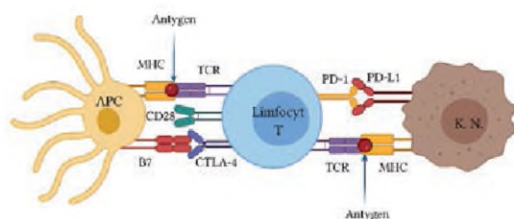


Ryc. 2. Prezentacja antygeny. [opracowanie własne, za pomocą BioRender.com]
APC - komórka prezentująca antygen

steczki powodujące wzmocnienie odpowiedzi odpornościowej organizmu to m.in. ICOS (ang. *inducible T-cell costimulator*, indukowalny kostymulator limfocytów T) i CD252 [6].

Immunoterapie na przestrzeni lat

Pierwszej obserwacji przemawiającej za udziałem układu immunologicznego w odporności przeciwnowotworowej dokonano już w XIX wieku. W roku 1893, chirurg William Coley zauważył zanik mięsaka u pacjenta, który chorował jednocześnie na infekcję bakteryjną. Zaczął więc stosować w terapii nowotworowej tzw. toksyny Coley'a, które zawierały drobnoustroje wywołujące różę. Infekcja zaktywowała odpowiedź immunologiczną, która w niektórych przypadkach działała także na komórki nowotworowe i powodowała regresję nowotworu [7]. Jednak w czasach Coley'a układ immunologiczny i mechanizmy jego działania nie były jeszcze dobrze poznane. Więcej uwagi poświęcano wówczas budzącemu wielkie nadzieje odkryciu promieniowania Roentgena i jego zastosowaniom w terapii nowotworów. Pojawienie się metod chemioterapeutycznych, radioterapeutycznych oraz



Ryc. 3. Synapsa immunologiczna. [opracowanie własne, za pomocą BioRender.com].
APC- komórka prezentująca antygen; K. N. - komórka nowotworowa

zmiennosc otrzymywanych przez Coley'a wynikow spowodowaly zaniechanie dalszych badan zwiazanych z tym sposobem leczenia [8].

W roku 1909 Paul Ehrlich, noblista w dziedzinie fizjologii i medycyny, sformulowal hipoteze o mechanizmach obronnych organizmu, ktore hamuja rozwoj komorek nowotworowych i przeciwdzialaja powstawaniu guzow nowotworowych. Ehrlich twierdzil, ze „w niezwykle skomplikowanym procesie, jakim jest rozwoj zarodkowy i pozazarodkowy, komorki nieprawidlowe powstaja bardzo czesto, jednak w wiekszosci przypadkow sa one calkowicie latentne dzieki pozytywnym mechanizmom organizmu ludzkiego [9]”. Jednak z powodu braku technik badawczych oraz ogolnego braku wiedzy o mechanizmach ukladu odpornosciowego hipoteza ta nie zostala wowczas potwierdzona eksperymentalnie.

Dopiero w koncu lat 50. XX wieku Lewis Thomas sformulowal hipoteze twierzaca, ze na powierzchni komorek nowotworowych znajduja sie charakterystyczne antygeny, niespotykane na komorkach prawidlowych. Thomas twierdzil, ze dzieki tym antygenom uklad immunologiczny rozpoznaje komorki nowotworowe [10]. Hipoteze o antygenach indukujacych odpowiedz immunologiczna rozbudowal Sir Frank Macfarlane Burnet, ktory razem z Thomasem jest uwazany za tworce teorii nadzoru immunologicznego. Teoria nadzoru immunologicznego (ang. *immune surveillance*) opiera sie na zalozeniu, ze komorki nowotworowe, posiadajace na swojej powierzchni

antygeny odmienne od komorek prawidlowych moga ulec eliminacji przez mechanizmy ukladu odpornosciowego, jezeli zostana w poro rozpoznane [11]. W koncu lat 50. ubieglego stulecia po raz pierwszy zademonstrowano doswiadczalnie, ze mechanizmy ukladu odpornosciowego moga byc uzyte w zwalczaniu nowotworow. Zauwazono zahamowanie wzrostu przeszczepionych komorek nowotworowych u myszy po zastosowaniu szczepionki *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) [12]. Pomimo nazwy, szczepionka BCG nie jest powiazana z rodzajem bakterii *Bacillus*, zawiera bowiem atenuowany szczep *Mycobacterium bovis*, mikroorganizmu powodujacego gruzylice u bydla. Szczep ten jest uzywany do szczepien przeciw gruzylicy od 1921 roku. Warto zaznaczyc, ze w roku 1990 szczepionka BCG zostala zatwierdzona przez amerykanska Agencje Zywnosci i Lekow (FDA) jako forma terapii przydatna w leczeniu raka pelcherza moczowego [8].

Kolejnym krokiem milowym w badaniu roli ukladu immunologicznego w walce z procesami nowotworzenia i poszukiwaniu potencjalnych terapii immunologicznych bylo odkrycie interferonu przez Alicka Isaacs i Jeana Lindenmanna. Do tego odkrycia przyczynila sie obserwacja fragmentow blony owodniowej zarodkow kurzych, podanych dzialaniu wirusa grypy, ktore staly sie niewrazliwe na zakazenia [13]. Obecnie wiadomo, ze interferony to cytokiny, ktorych ekspresja jest indukowana przez czynniki takie jak: antygeny, polinukleotydy, wirusy. Wykazuja one m.in. dzialanie przeciw-

wirusowe [38]. W roku 1969 Ion Gresser i współpracownicy odkryli przeciwnowotworowe działanie interferonu. Zauważono zwiększoną przeżywalność myszy chorych na nowotwór, którym podawano interferon [14]. Obecnie wiadomo, że podstawą działania przeciwnowotworowego interferonów jest hamowanie replikacji wirusów onkogennych oraz modulacja procesów różnicowania i rozwoju komórek układu immunologicznego, głównie aktywacja makrofagów przez IFN- γ [38].

Kolejnym ważnym odkryciem, którego dokonali Elizabeth Carswell i współpracownicy, było odkrycie czynnika martwicy nowotworu TNF (ang. *tumor necrosis factor*), cytokiny indukującej martwicę krwotoczną guzów wszczepionych zwierzętom doświadczalnym [15]. TNF jest produkowany przez komórki także w odpowiedzi na produkty wytwarzane przez komórki bakteryjne, np. toksyny. Możliwe, że to właśnie indukcja wzmożonego wytwarzania czynnika martwicy nowotworu i niektórych interleukin była podstawą działania przeciwnowotworowego wspomnianych wcześniej toksyn Coley'a [8].

Odkrycie interferonów, TNF i innych cytokin spowodowało zwiększenie zainteresowania badaczy immunoterapią nowotworów. Liczba artykułów naukowych dotyczących tego tematu zaczęła wzrastać w latach 70. XX wieku [16].

W roku 1983, dwa lata po formalnym uznaniu wzrostu zachorowań na AIDS w USA za epidemię, zaobserwowano związek między zanikiem odporności, a częstszym występowaniem mięsaka Kaposiego, co po raz kolejny przema-

wiało za możliwością wyindukowania odpowiedzi układu immunologicznego na nowotwór [17].

Na początku lat 90. ubiegłego stulecia zidentyfikowano i opisano specyficzne antygeny występujące na komórkach czerniaka. Zauważono, że mogą one być potencjalnym celem immunoterapii [18]. Kilka lat później został zidentyfikowany antygen rakowo-jądrowy NY-ESO-1. NY-ESO-1 jest prezentowany limfocytom T przez komórki prezentujące antygen w kompleksie z MHC klasy I [19]. Przeciwciała skierowane przeciwko NY-ESO-1 obecnie są testowane jako potencjalna forma terapii przeciwnowotworowej [20].

Immunoterapie działające na punkty kontrolne układu immunologicznego

Według koncepcji Hanahana i Weinberga (2011), jedną z cech różniących komórki nowotworowe od prawidłowych jest ich zdolność do unikania wykrycia i wyeliminowania przez układ odpornościowy [3].

Tzw. „ucieczka” nowotworu polega na tworzeniu się immunosupresyjnego środowiska wokół guza nowotworowego. Środowisko to sprawia, że odpowiedź przeciwnowotworowa jest hamowana i dochodzi do indukcji tolerancji. W pobliżu nowotworu w dużych ilościach występują regulatorowe limfocyty T, cytokiny supresorowe, mieloidalne komórki supresorowe oraz białkowe cząsteczki kostymulatorowe o aktywności supresyjnej - punkty kontrolne układu immunologicznego [21]. Koncepcja aktywacji naiwnych limfo-

cytów T za pomocą dwóch sygnałów, znana już od 1975 roku, w latach 90. XX wieku została rozszerzona o sygnały pochodzące od białek kostymulatorowych, takich jak np. PD-1 i CTLA-4. Podczas prezentacji antygeny niezbędne są oba sygnały, w przypadku braku któregoś z nich stymulowany limfocyt T wejdzie w stan anergii (stan niezdolności do reakcji na antygen). Do anergii dojdzie również wówczas, gdy zostaną aktywowane receptory – punkty kontrolne układu immunologicznego [24].

Obecnie wiadomo, że aktywność komórek układu immunologicznego jest wypadkową ekspresji i oddziaływań wielu cząsteczek kostymulatorowych. Modulowanie ich aktywności może więc mieć potencjalne zastosowanie terapeutyczne. Główną funkcją cząsteczek kostymulatorowych o aktywności supresyjnej, takich jak PD-1 oraz CTLA-4 w zdrowych tkankach jest zapobieganie autoimmunizacji poprzez hamowanie działania układu immunologicznego, natomiast w mikrośrodku nowotworowym mogą one stać się narzędziem tzw. ucieczki nowotworu spod nadzoru immunologicznego. Zgodnie z założeniem, blokada tych receptorów powinna wzmacniać odpowiedź odpornościową i przeciwnowotworową [22].

W 2018 roku James P. Allison oraz Tasuku Honjo zostali laureatami Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny za odkrycie terapii nowotworów poprzez inhibicję negatywnej regulacji układu immunologicznego.

Receptor CTLA-4

Początki badań

W 1995 roku przeprowadzono badania *in vivo* na myszach pozbawionych genu kodującego białko CTLA-4, które wykazały, że receptor ten pełni ważną rolę w negatywnej regulacji aktywności limfocytów T. Zauważono, że brak CTLA-4 prowadzi do nadczynności układu immunologicznego u myszy, powoduje rozwój chorób limfoproliferacyjnych, zniszczenie tkanek i narządów, a w konsekwencji przedwczesną śmierć w wieku 3-4 tygodni [23]. Doświadczenie to potwierdziło, że CTLA-4 cechuje się aktywnością supresyjną wobec komórek T i jest niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania układu odpornościowego.

W tym samym roku zespół badawczy Jamesa P. Allisona zauważył przeciwny wpływ CTLA-4 i CD28 na proliferację limfocytów T [24]. Rok później stwierdzono, że blokada CTLA-4 wzmacnia odpowiedź przeciwnowotworową układu odpornościowego [25]. Zauważono też, że CTLA-4 hamuje produkcję interleukiny 2 oraz zaburza cykl komórkowy nieaktywnych limfocytów T, uniemożliwiając przejście z fazy G1 do fazy S. Ta obserwacja obaliła początkową hipotezę, zakładającą udział tego białka w indukcji apoptozy komórek T [26].

Ekspresja CTLA-4

CTLA-4 ulega ekspresji na powierzchni limfocytów T cytotoksycznych (CD8+) oraz limfocytów T pomocniczych (CD4+) w konsekwencji ich aktywacji poprzez sygnał TCR/kompleks

MHC-antygen. [27]. Natomiast na limfocytach T regulatorowych, których podstawową funkcją jest hamowanie aktywności efektorowych komórek T, ekspresja CTLA-4 jest konstytutywna [22].

Mechanizmy działania CTLA-4

Podstawowym mechanizmem działania CTLA-4 jest konkurencja z białkiem kostymulatorowym CD28 o wiązanie do jego ligandów CD80 i CD86, występujących na komórkach prezentujących antygen. CTLA-4 charakteryzuje się większym powinowactwem do CD80/CD86, więc skutecznie uniemożliwia ich interakcję z CD28, blokuje sygnał kostymulatorowy i umożliwia supresję limfocytów [25].

Ważnym mechanizmem działania CTLA-4, oprócz konkurencji o ligandy z CD28, jest proces zwany transendocytozą. Podczas transendocytozy CTLA-4 wychwytuje ligandy CD80 i CD86 z powierzchni komórki prezentującej. Są one później kierowane do wnętrza komórki wytwarzającej CTLA-4 i degradowane. Proces ten wymaga ekspresji znacznej liczby cząsteczek CTLA-4 na komórcie T. Usuwanie ligandów zależy też od czasu trwania kontaktu limfocytu T i komórki prezentującej antygen [27].

Blokada receptora CTLA-4

CTLA-4 jest zaangażowane w ograniczanie odpowiedzi przeciwnowotworowej komórek T. Podjęto więc próbe zablokowania CTLA-4 przeciwciałami monoklonalnymi, które mogą zapobiegać supresji limfocytów T i utrzymywać je w stanie aktywacji, co z kolei

doprowadza do wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej w organizmie. Tym samym powinna ulec spotęgowaniu reakcja przeciwnowotworowa, co jest podstawą zastosowania przeciwciał anty-CTLA-4 w immunoterapii nowotworów [21].

Blokada CTLA-4 wzmacnia odpowiedź przeciwnowotworową układu immunologicznego poprzez zwiększanie nacieku efektorowych limfocytów T do mikrośrodowiska nowotworu i hamowanie przenikania limfocytów T regulatorowych do tego środowiska [27]. Dzięki tym obserwacjom opracowano leki Ipilimumab i tremelimumab, które zostały zatwierdzone jako przeciwciała monoklonalne anty-CTLA-4. Dzięki tym przeciwciałom odniesiono sukces w terapii różnych nowotworów, w tym czerniaka, raka płuc, nerek, pęcherza moczowego oraz chłoniaka Hodgkina [28].

Receptor PD-1

Początki badań

Receptor PD-1 został odkryty przez zespół badawczy laureata Nagrody Nobla Tasuku Honjo na Uniwersytecie w Kioto w 1992 roku. Zauważono wtedy zwiększoną ekspresję tej cząsteczki na mysich hybrydomach komórek T podczas apoptozy [29].

Rola PD-1 w negatywnej regulacji odpowiedzi odpornościowej została zaobserwowana w 1999 roku. Zauważono większą podatność na choroby autoimmunologiczne u myszy nie posiadających genu *Pdcd1*, kodującego ten receptor [30]. Pobudzenie receptora PD-1 przez jego ligandy hamuje

funkcję efektorowych komórek T i prowadzi do ich wycieńczenia (ang. *T cell exhaustion*), a w niektórych przypadkach do apoptozy [31].

Ekspresja PD-1 i jego ligandów

PD-1 jest obecny na powierzchni aktywowanych komórek T i B, komórkach NK i monocytach. Do ekspresji PD-1 w limfocytach dochodzi po stymulacji receptorów BCR lub TCR przez antygen.

Białko PD-1 posiada dwa ligandy: PD-L1 oraz PD-L2. Pierwszy z nich ulega konstytutywnej ekspresji na limfocytach, makrofagach i komórkach dendrytycznych. Ekspresja PD-L1 wzrasta wraz z aktywacją tych komórek. Białko to może występować także na powierzchni komórek niehematopoetycznych. Co więcej, ekspresję PD-L1 zauważono także w komórkach wielu rodzajów nowotworów ludzkich.

Natomiast PD-L2 nie ulega tak szerokiej ekspresji, może pojawiać się na komórkach dendrytycznych, makrofagach i limfocytach B pamięci po odpowiedniej stymulacji [32].

Mechanizmy działania PD-1

Ekspresja cząsteczek PD-1 jest indukowana na efektorowych komórkach T w odpowiedzi na sygnały zapalne i powoduje zahamowanie aktywności tych komórek. Najczęściej dzieje się to w przypadku infekcji, a także podczas progresji nowotworów. Interakcja PD-1 z ligandami PD-L1 oraz PD-L2 skutkuje zahamowaniem proliferacji limfocytów T oraz reguluje ekspresję białek antyapoptotycznych, na przykład Bcl-xL (ang. *B-cell-lymphoma-extra-*

large) [33].

PD-1 ma także duży wpływ na produkcję cytokin, szczególnie IL-2, TNF- α oraz IFN- γ . Moc sygnałów hamujących przekazywanych za pomocą ścieżek sygnałowych PD-1 zależy od mocy sygnału przekazywanego przez receptor TCR. Im słabsza stymulacja TCR, tym mocniejszy jest efekt hamujący PD-1. Efekt ten może zostać zniesiony przez regulację pozytywną z udziałem CD28 oraz IL-2 [34].

Interakcja PD-1 i PD-L1 w normalnych tkankach jest niezbędna do utrzymania homeostazy układu odpornościowego, obrony przed odpowiedzią immunologiczną na komórki własne organizmu podczas infekcji i stanów zapalnych. Natomiast w mikrośrodku nowotworowym interakcja tych dwóch cząsteczek wspomaga tzw. ucieczkę nowotworu [33].

Blokada receptora PD-1

Receptor PD-1 oraz jego ligandy znajdujące się w środowisku nowotworowym hamują odpowiedź przeciwnowotworową, więc blokada tych białek przeciwciałami monoklonalnymi powinna, podobnie jak w przypadku CTLA-4, zapobiegać ucieczce nowotworu i amplifikować odpowiedź układu odpornościowego na nowotwór.

W 2002 roku zaobserwowano terapeutyczną funkcję przeciwciał anti-PD-1 u myszy z nowotworami wywołanymi eksperymentalnie [35]. Było to pierwszym doniesieniem na temat roli blokady PD-1 w środowisku nowotworowym.

Pierwsze wyniki I fazy badań klinicznych wykazały, że u pacjentów prze-

ciwciało monoklonalne anty-PD-1 o nazwie MDX-1106 (później nivolumab) jest dobrze tolerowane i wykazuje działanie przeciwnowotworowe [36]. Innym przeciwciałem anty-PD1 stosowanym w immunoterapii jest pembrolizumab. Do rzadziej używanych należy, m.in. pidilizumab [33].

Inne punkty kontrolne układu odpornościowego

Sukces terapii przeciwciałami anty-CTLA-4 oraz anty-PD-1 zachęcił badaczy do poszukiwania innych receptorów – punktów kontrolnych, które mogłyby posłużyć jako potencjalny cel immunoterapii. Przykładem takich białek są TIM-3 –transbłonowa immunoglobulina i mucyna 3 (ang. *T cell immunoglobulin and mucin domain 3*) oraz receptor LAG-3 (ang. *lymphocyte-activation gene 3*, gen aktywacji limfocytów 3).

Receptor TIM-3 ulega ekspresji przede wszystkim na pomocniczych limfocytach T, zdolnych do wytwarzania IFN- γ . Ligandem dla tego receptora jest galektyna-9. Jej związanie indukuje apoptozę pomocniczej komórki T. Wykazano, że przeciwciała anty-TIM-3 prowadzą do spowolnienia wzrostu komórek nowotworowych, a szczególnie skuteczne są w połączeniu z przeciwciałami anty-CTLA-4 lub anty-PD-1 [39].

Natomiast receptor LAG-3 występuje zarówno na pomocniczych, jak i efektorowych limfocytach T. Jego ligandem jest cząsteczka MHC klasy II. Wiążąc się z nią LAG-3 stanowi przeszkodę w aktywacji limfocyta [40]. Wiadomo, że LAG-3 współwystępuje z PD-1 na ko-

mórkach T naciekających nowotwór. Wykazano także zwiększoną skuteczność w hamowaniu wzrostu guza w przypadku połączenia terapii przeciwciałami anty-LAG-3 i anty-PD-1 [41].

Potencjalne nowe cele immunoterapii: HHLA2 i receptor TMIGD2

Jednym ze stosunkowo niedawno odkrytych białek, które mogą stanowić potencjalny cel immunoterapii jest HHLA2 (ang. *HERV-H LTR-associating 2*). Białko to należy do nadrodziny B7. Ortologi HHLA2 występują u gatunków takich jak człowiek, panda wielka, niektóre gatunki ryb oraz płazów. Nie zauważono ekspresji HHLA2 w laboratoryjnych szczepach myszy i szczurów, co znacznie utrudnia badania dotyczące tego białka.

Ekspresja HHLA2 w ludzkich monocytach jest konstytutywna, natomiast w limfocytach B jest indukowalna. W odróżnieniu od CTLA-4 czy PD-1, HHLA2 nie jest produkowane w limfocytach T.

Natomiast receptory dla HHLA2 występują na wielu komórkach układu immunologicznego, takich jak limfocyty T, limfocyty B, monocyty i komórki dendrytyczne. Jednym z nich jest białko TMIGD2 (ang. *transmembrane and immunoglobulin domain containing 2*), homolog CD28. Podobnie jak HHLA2, cząsteczka ta występuje u ludzi i małp, ale nie zauważono jej ekspresji u myszy i szczurów. TMIGD2 może występować w komórkach pochodzenia śródbłonkowego i nabłonkowego, w przypadku nadekspresji w śródbłonkowych liniach komórkowych posiada

zdolność do indukcji angiogenezy *in vitro*. Ścieżka sygnałowa HHLA2/TMIGD2 może stanowić potencjalny cel immunoterapii nowotworów. Konsekwencją blokady tej ścieżki mogłaby być nie tylko indukcja odpowiedzi przeciwnowotworowej układu odpornościowego, ale także zahamowanie procesu angiogenezy w nowotworach [37].

Podsumowanie

Mechanizmy układu odpornościowego były wykorzystywane w zwalczaniu nowotworów już od czasów Williama B. Coley'a. Ostatnie dwie dekady przyniosły znaczący postęp w immunoterapii opartej o blokadę receptorów – punktów kontrolnych układu immunologicznego. W celu udoskonalenia immunoterapii niezbędne jest dokładniejsze poznanie mechanizmów działania białek, w oparciu o które są konstruowane terapie.

Poza badaniem mechanizmów działania już poznanych receptorów, ważnym krokiem ku rozwojowi immunoterapii są też próby odkrycia nowych białek, które biorą udział w odpowiedzi przeciwnowotworowej lub są elementem ucieczki nowotworu spod kontroli układu immunologicznego. Takie białka mogłyby stanowić potencjalne nowe cele immunoterapii, być może skuteczniejsze niż już istniejące, lub zwiększających efektywność działania w połączeniu z innymi lekami.

Bibliografia

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and

mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.

[2] Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70.

[3] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.

[4] Pardoll D, Drake C. Immunotherapy earns its spot in the ranks of cancer therapy. *J Exp Med.* 2012;209(2):201-9.

[5] Lafferty KJ, Cunningham AJ. A new analysis of allogeneic interactions. *Aust J Exp Biol Med Sci.* 1975;53(1):27-42.

[6] Sharpe AH. Introduction to checkpoint inhibitors and cancer immunotherapy. *Immunol Rev.* 2017;276(1):5-8.

[7] Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin Orthop Relat Res.* 1991;(262):3-11.

[8] <https://www.mskcc.org/timeline/immunotherapy-msk> [dostęp: 11.09.2020].

[9] Ehrlich, P. Über den jetzigen Stand der Chemotherapie. *Ber Dtsch Chem Ges.* 1909;42(1), 17-47.

[10] Thomas, L., & Lawrence, H. S. Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states. New York: Hoeber-Harper. 1959; 529-32.

[11] Burnet FM. Immunological surveillance. Oxford, Pergamon Press; 1970

[12] Old LJ, Clarke DA, Benacerraf B. Effect of *Bacillus Calmette-Guerin* infection on transplanted tumours in the mouse. *Nature.* 1959;184(Suppl 5):291-2.

[13] Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond, B, Biol Sci.* 1957;147(927):258-67.

[14] Gresser I, Bourali C, Lévy JP, Fontaine-brouty-boyé D, Thomas MT. Increased survival in mice inoculated with tumor cells and treated with interferon preparations. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1969;63(1):51-7.

[15] Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1975;72(9):3666-70.

[16] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=cancer+immunotherapy> [dostęp: 11.09.2020].

[17] Krown SE, Real FX, Cunningham-rundles S, et al. Preliminary observations on the effect of recombinant leukocyte A interferon in

homosexual men with Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med*. 1983;308(18):1071-6.

[18] Houghton AN. Cancer antigens: immune recognition of self and altered self. *J Exp Med*. 1994;180(1):1-4.

[19] Jäger E, Chen YT, Drijfhout JW, et al. Simultaneous humoral and cellular immune response against cancer-testis antigen NY-ESO-1: definition of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-A2-binding peptide epitopes. *J Exp Med*. 1998;187(2):265-70.

[20] Thomas R, Al-khadairi G, Roelands J, et al. NY-ESO-1 Based Immunotherapy of Cancer: Current Perspectives. *Front Immunol*. 2018;9:947.

[21] Swatler J, Kozłowska E. [Immune checkpoint-targeted cancer immunotherapies]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016;70:25-42.

[22] De sousa linhares A, Leitner J, Grabmeier-pfistershammer K, Steinberger P. Not All Immune Checkpoints Are Created Equal. *Front Immunol*. 2018;9:1909.

[23] Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, Lynch WP, Bluestone JA, Sharpe AH. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity*. 1995;3(5):541-547.

[24] Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med*. 1995;182(2):459-65.

[25] Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*. 1996;271(5256):1734-6.

[26] Krummel MF, Allison JP. CTLA-4 engagement inhibits IL-2 accumulation and cell cycle progression upon activation of resting T cells. *J Exp Med*. 1996;183(6):2533-40.

[27] Mitsuiki N, Schwab C, Grimbacher B. What did we learn from CTLA-4 insufficiency on the human immune system?. *Immunol Rev*. 2019;287(1):33-49.

[28] Van der vlist M, Kuball J, Radstake TR, Meyaard L. Immune checkpoints and rheumatic diseases: what can cancer immunotherapy teach us?. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(10):593-604.

[29] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*. 1992;11(11):3887-95.

[30] Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N,

Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*. 1999;11(2):141-51.

[31] Chen J, Jiang CC, Jin L, Zhang XD. Regulation of PD-L1: a novel role of pro-survival signalling in cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(3):409-16.

[32] Riella LV, Paterson AM, Sharpe AH, Chandraker A. Role of the PD-1 pathway in the immune response. *Am J Transplant*. 2012;12(10):2575-87.

[33] Dermani FK, Samadi P, Rahmani G, Kohlan AK, Najafi R. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: Potential target for cancer therapy. *J Cell Physiol*. 2019;234(2):1313-1325.

[34] Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:677-704. (Keir et al., 2008).

[35] Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(19):12293-7.

[36] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol*. 2010;28(19):3167-75.

[37] Janakiram M, Chinai JM, Zhao A, Sparano JA, Zang X. HHLA2 and TMIGD2: new immunotherapeutic targets of the B7 and CD28 families. *Oncoimmunology*. 2015;4(8):e1026534.

[38] Samuel CE. Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(4):778-809.

[39] Ngiow SF, Teng MWL, Smyth MJ. Prospects for TIM-3-targeted antitumor immunotherapy. *Cancer Research*. 2011;71(21):6567-6571.

[40] De Sousa Linhares A, Leitner J, Grabmeier-pfistershammer K, Steinberger P. Not all immune checkpoints are created equal. *Front Immunol*. 2018;9:1909.

[41] Woo S-R, Turnis ME, Goldberg MV, et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Research*. 2012;72(4):917-927